LA GENETIQUE BACTERIENNE

UNIVERSITE D'ALGER FACULTE DE MEDECINE
SPECIALITE DE MICROBIOLOGIE
COURS 3éme ANNEE DE MEDECINE
Dr. CHABANI (HCA)
2016-2017

INTRODUCTION

La génétique microbienne a pour objet l'étude du génome des micro-organismes à savoir les gènes, leurs variations génotypiques et de leurs expressions phénotypiques.

La nature d'une cellule et toutes ses activités, proviennent d'instructions présentes dans la cellule sous la forme d'une information génétique.

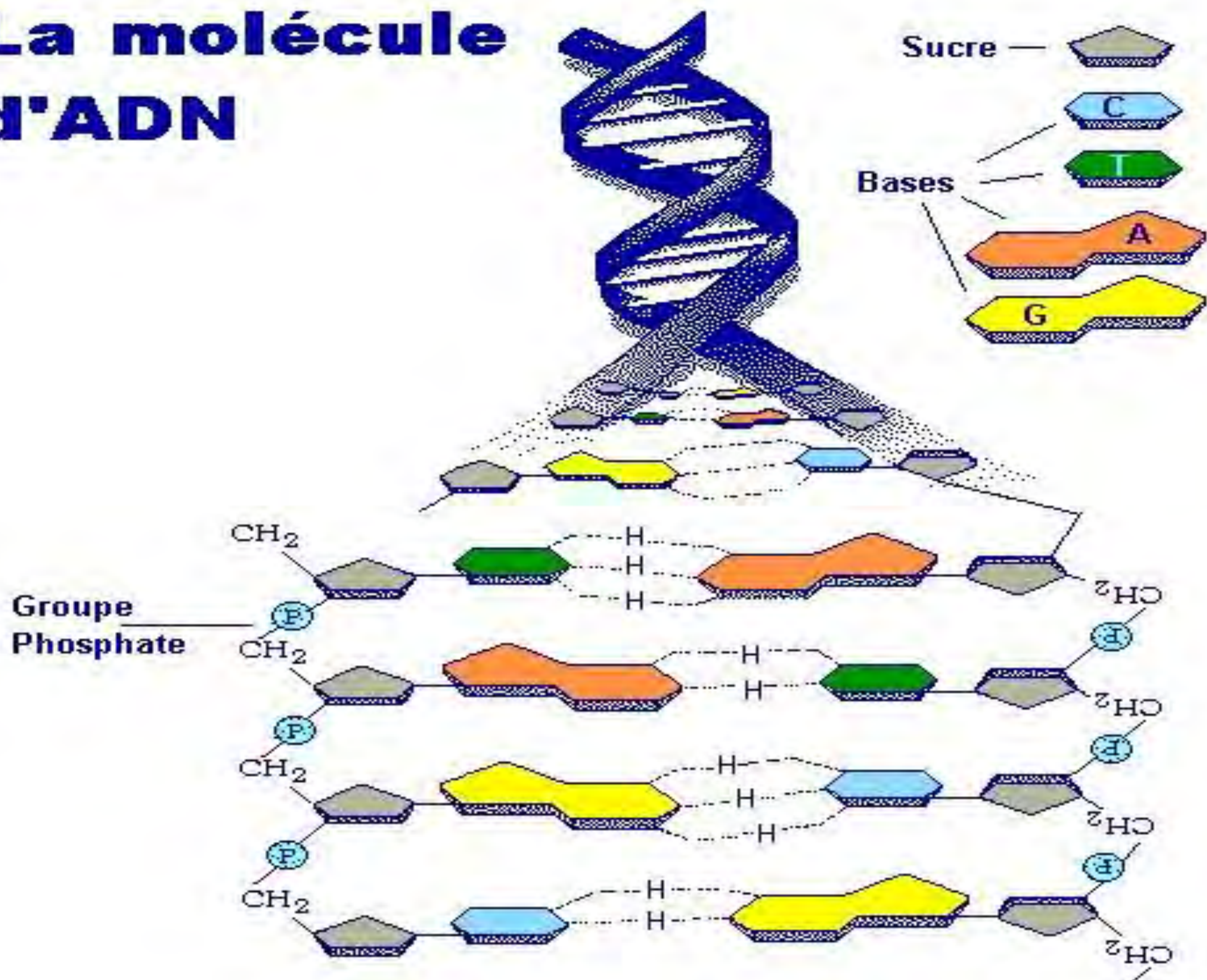
Chez les bactéries comme chez la plupart des êtres vivants, cette information est inscrite dans la structure d'une molécule qui est l'acide désoxyribonucléique (ADN) qui forme le chromosome de la cellule.

L'ADN et l'acide ribonucléique ARN sont des macromolécules classées dans la catégorie des acides nucléiques. Ces deux molécules jouent un grand rôle en génétique.

RAPPELS

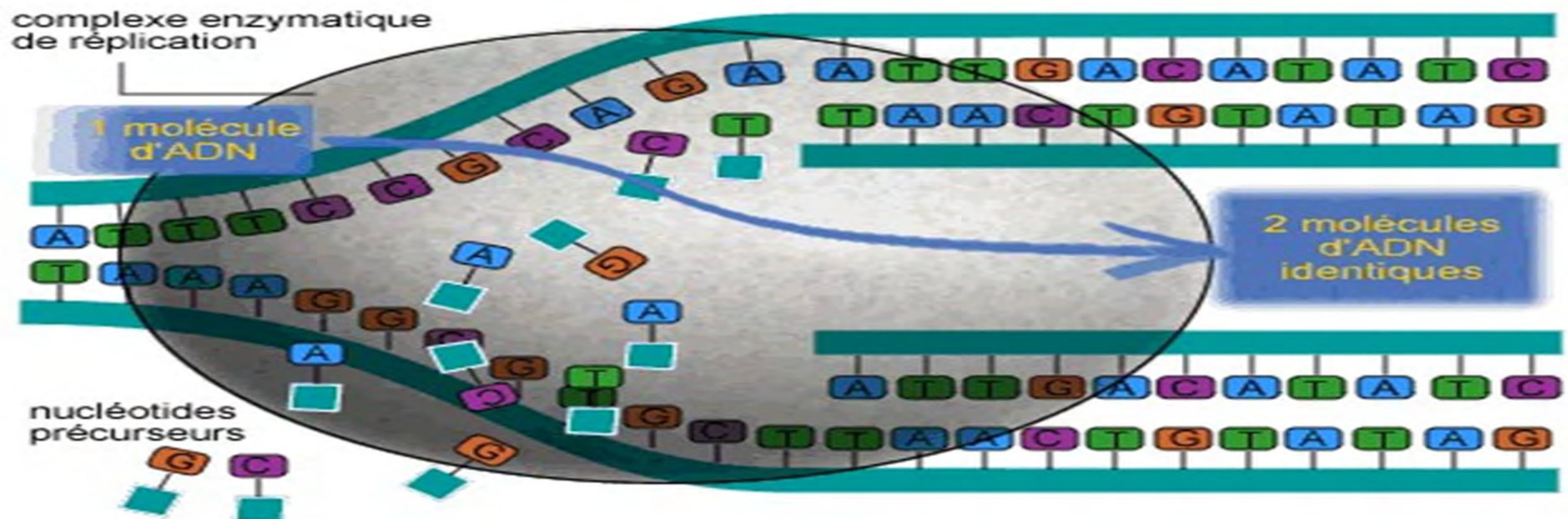
Structure chimique des ac.nucléiques:

- ce sont des polymères formès d'unités élémentaires appelés nucléotides qui sont eux-mêmes constitués de trois composants : un sucre à 5 atomes de carbone, une base azotée et un ou plusieurs résidus phosphates.
- les nucléotides dont le sucre est le ribose sont dits : ribonucléotides et si c'est du désoxyribose ce sont des desoxyribonucléotides.
- les bases de l'ADN sont : adénine-guanine-cytosine-thymine.
- les bases de l'ARN sont : adénine-guanine-cytosine-uracile


La molécule d'ADN
Sucre
Bases
C
T
A
G
Groupe Phosphate
CH2
P
H

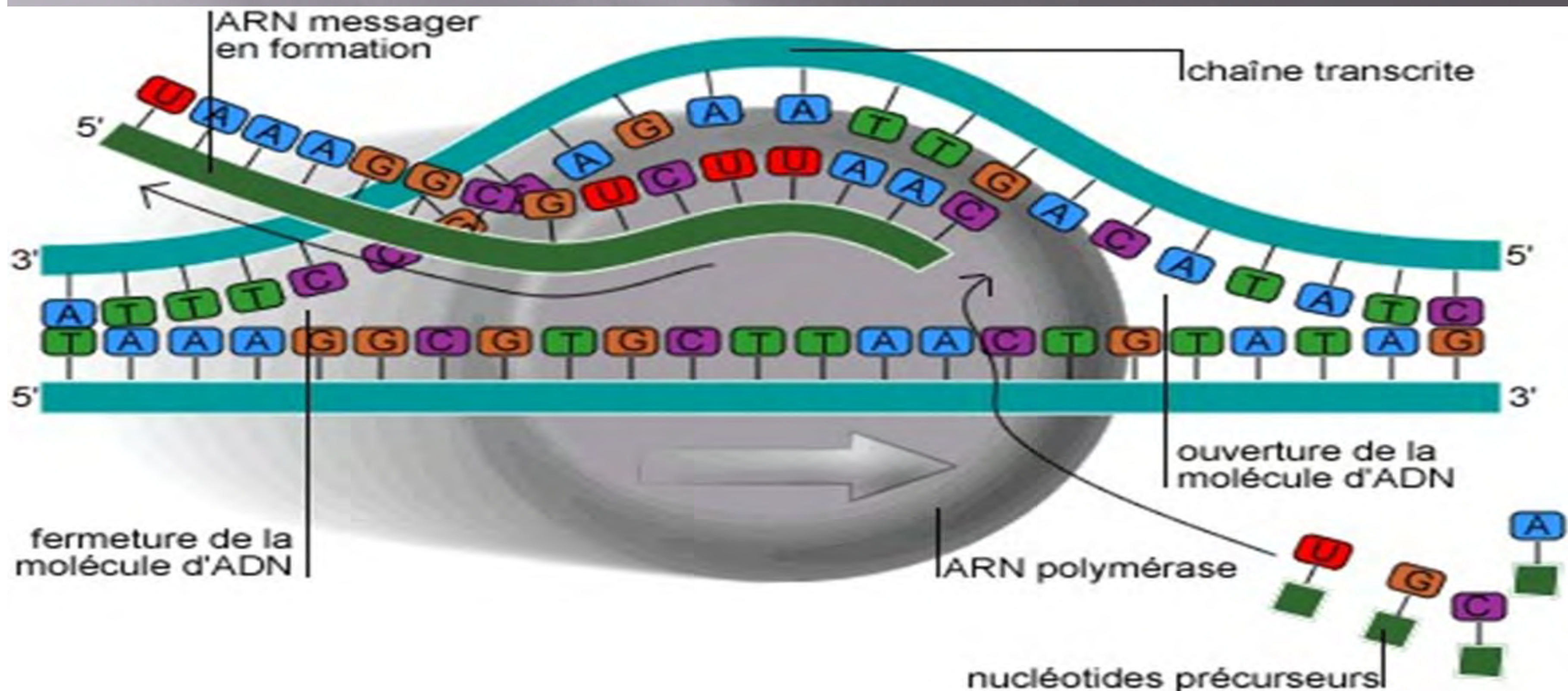
Synthèse des acides nucléiques

- synthèse de l'ADN: ***réplication*** : la séquence des bases de l'ADN constitue l'information génétique de la cellule . Quand elle se reproduit chaque cellule fille doit recevoir une copie exacte de cette information
- La Replication



- synthèse de l'ARN: *transcription* (synthèse de l'ARN messager à partir de l'ADN)

La Transcription

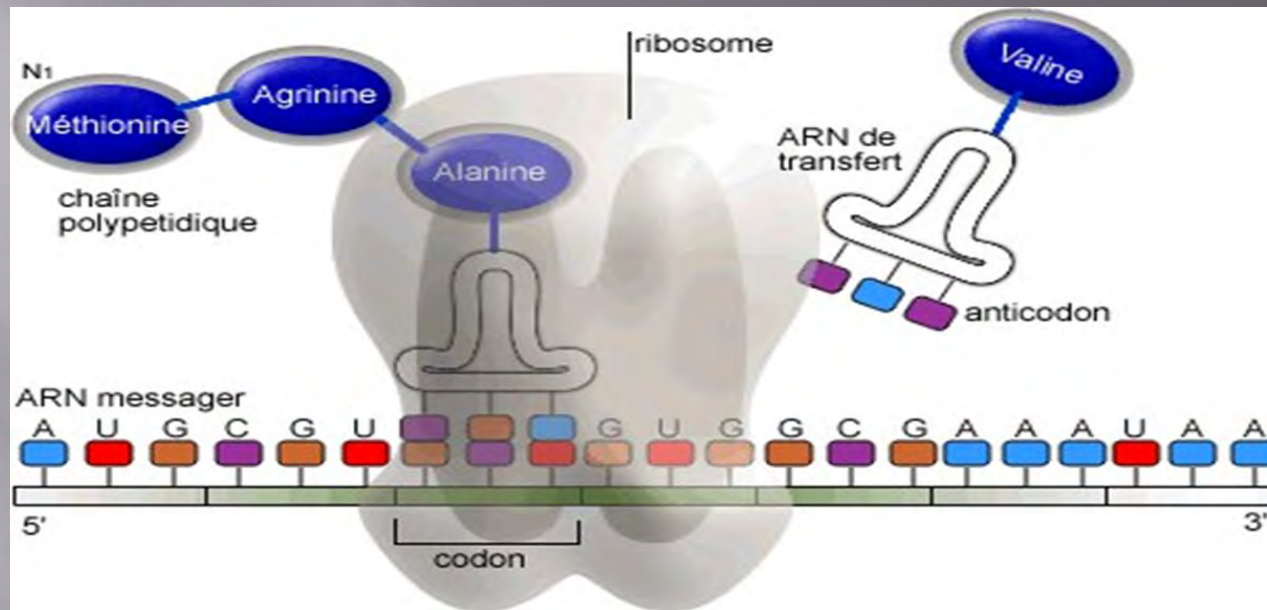


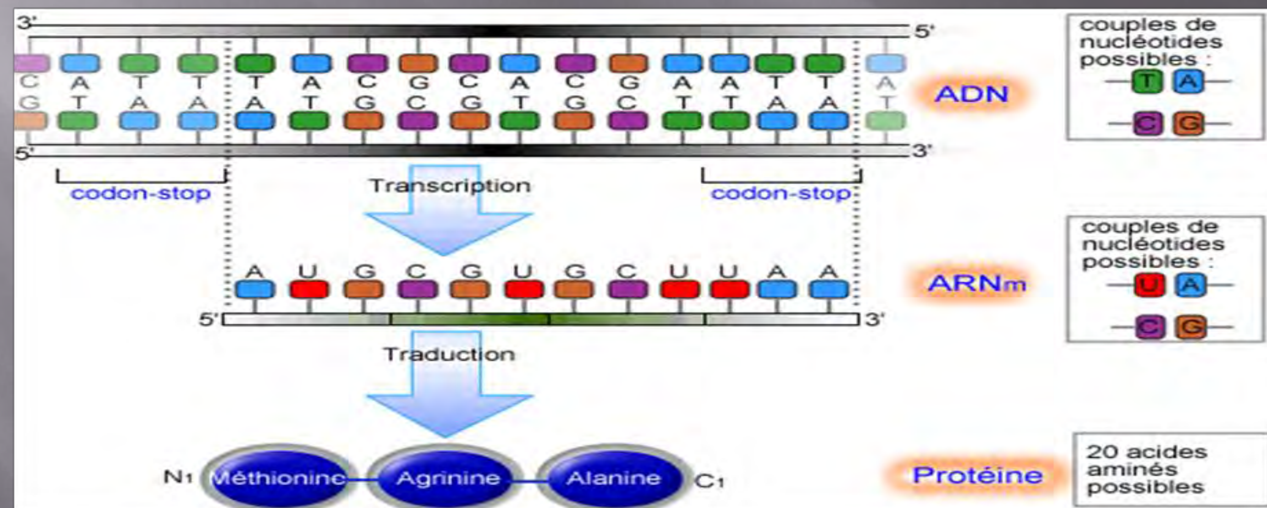
Synthèse des protéines : toutes les activités bactériennes sont catalysées et contrôlées par des protéines spécifiques : les enzymes. D'autres protéines ont des rôles régulateurs ou structuraux.

Il en résulte que les instructions génétiques inscrites dans l'ADN d'une cellule, déterminent la nature de cette cellule, en dirigeant la synthèse des protéines.

En d'autres termes la synthèse des protéines est le processus par lequel l'information génétique s'exprime.

Traduction





Synthèsedesprotéines

LES VARIATIONS GENETIQUES

A/ LA MUTATION

1) Définition : la mutation est un changement, *spontané* ou *provoqué* par un agent mutagène, elle est *héréditaire* (stable), *brusque* (discontinu), *rare* (10^{-6} à 10^{-9}) et indépendant dans les caractères d'une bactérie et qui est lié à une modification du génome bactérien (c'est un changement dans la séquence d'ADN)

2) Caractères de la mutation :

- ***Spontanée*** : pour révéler la présence d'un mutant il est nécessaire d'utiliser un moyen sélectif (milieu de culture avec un antibiotique ou un milieu minimum additionné d'un seul acide aminé). Ce caractère a été formellement établi par l'analyse statistique de la distribution des mutants dans des tubes de bouillon de culture ensemencés en parallèle avec une même suspension bactérienne (expérience de LEDERBERG et LEDERBERG ou test des répliques au tampon de velours, sans contact avec l'agent sélecteur) . La bactérie mutante **préexiste** au sein de la population avant même tout contact avec l'agent sélectif

- ***Rare*** : cette rareté est mesurable par le taux de mutation, qui est la probabilité pour une bactérie de muter pendant une unité de temps définie. (ex : 10^{-6} sur une population de 10^{6} soit 1 mutant) .

- ***Stable*** : le caractère acquis par la mutation est alors transmissible à la descendance donc héréditaire. Toutefois ceci n'exclut pas le retour au caractère d'origine par mutation reverse

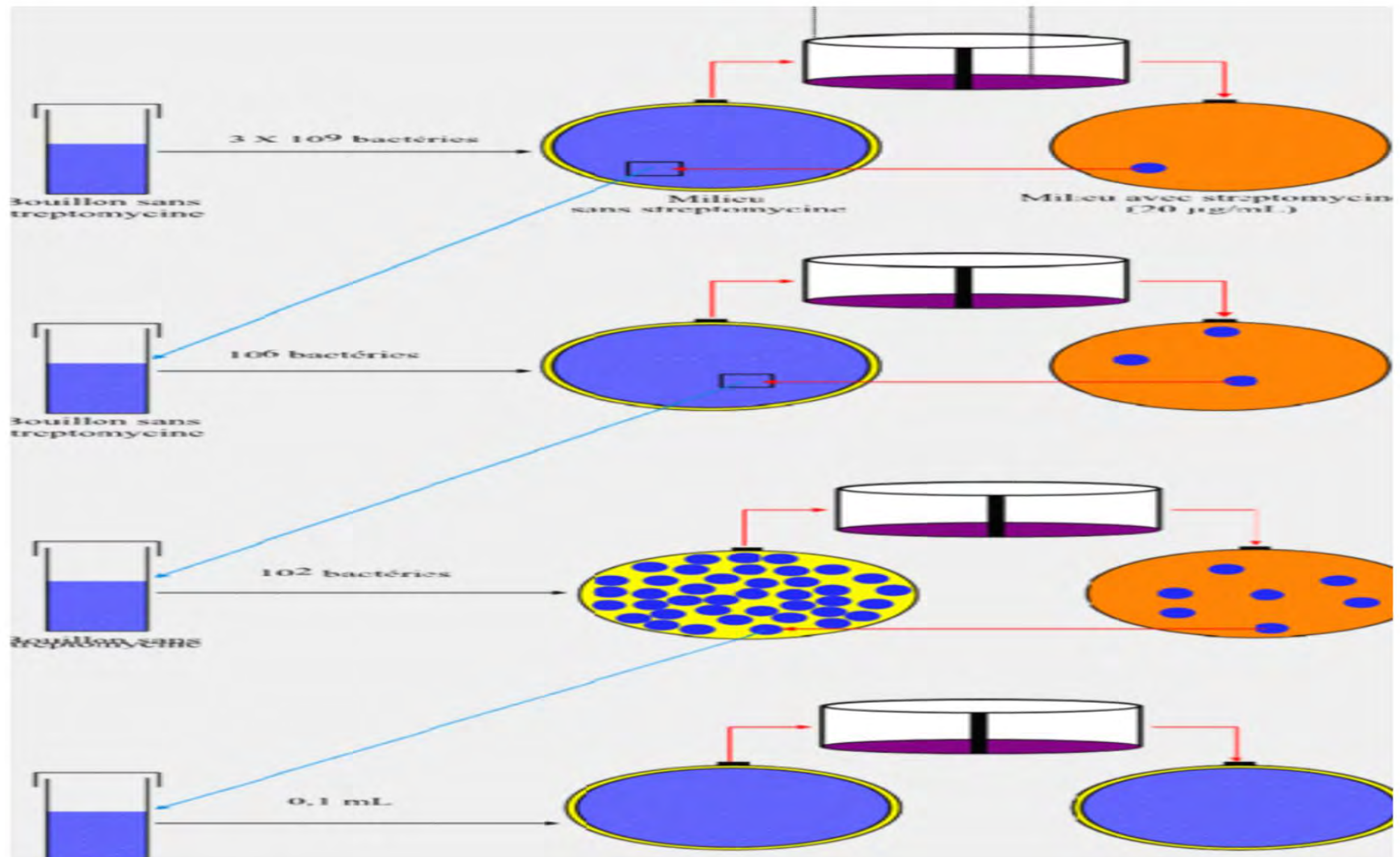
- ***Spécifique et indépendante*** : la mutation n'affecte habituellement qu'un seul caractère. La mutation d'un caractère donné ne modifie pas la probabilité de mutation d'un autre caractère, il y a indépendance des mutations. La probabilité d'une mutation double est très faible.

- ***Discontinue (brusque)*** : la mutation ne se fait pas à la suite d'une longue période d'adaptation progressive, mais habituellement en une seule étape (loi du tout ou rien)

A l'échelon moléculaire la mutation est un changement dans la séquence . Peut se faire de 2 manières :

- Soit par substitution d'une paire de bases par une autre.
- Soit par cassure de l'ossature sucre-phosphate de l'ADN

Expérience de LEDERBERG et LEDERBERG ou test des répliques au tampon de velours



B/ LES TRANSFERTS GENETIQUES :

La bactérie peut être l'objet de variations génétiques autres que la mutation. Celles-ci peuvent résulter de transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre par 03 importants processus qui sont :

la transformation-la transduction- la conjugaison.

1. La transformation

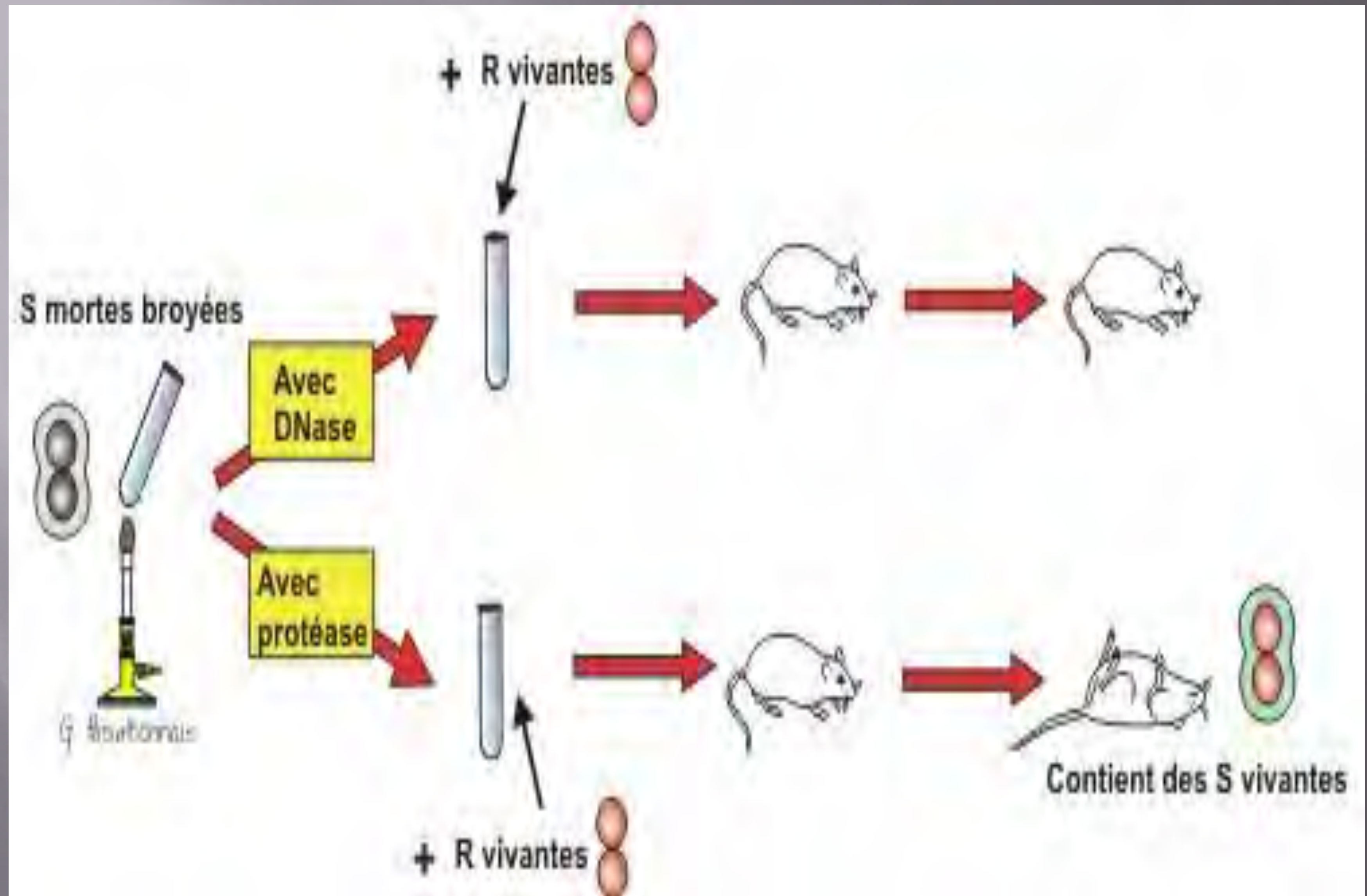
- C'est un mécanisme par lequel il y a eu transfert passif d'ADN d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice dite en état de compétence. Le transfert qui est partiel et limité à quelques espèces bactériennes, entraine l'acquisition par la bactérie réceptrice de nouveaux caractères génétiques stables et transmissibles.
- C'est en 1928 que GRIFFITH démontre en inoculant à des souris un mélange de pneumocoques capsulés (virulents) tués par la chaleur et de pneumocoque acapsulés (non virulents) vivants entraine une septicémie mortelle à pneumocoque capsulés vivants .il y a donc eu transformation de pneumocoque acapsulés en pneumocoque capsulés.

Experience de GRIFFITH

n°	expériences		état de la souris	analyse du sang de la souris
1	pneumocoques S vivants	pneumocoques S vivants	mort	présence de très nombreux pneumocoques S vivants
2	pneumocoques R vivants	pneumocoques R vivants	survie	absence de tout pneumocoque
3	capsule détruite pneumocoques S tués	pneumocoques S tués	survie	absence de tout pneumocoque
4	pneumocoques S tués + pneumocoques R vivants	pneumocoques S tués + pneumocoques R vivants	mort	Présence de très nombreux pneumocoques S vivants
5	pneumocoques S tués et sans ADN + pneumocoques R vivants	pneumocoques S tués et sans ADN + pneumocoques R vivants	survie	absence de tout pneumocoque
6	pneumocoques R vivants +ADN extrait de pneumocoques S	pneumocoques R vivants + ADN extrait de pneumocoques S	mort	Présence de très nombreux pneumocoques S vivants

- La transformation naturelle peut s'observer chez un nombre limité d'espèces bactériennes à GRAM + (*streptocoques* et bacillus) ou à GRAM – (*neisseria, branhamella, acinetobacter, haemophilus*)
- Elle ne peut avoir lieu qu'a une seule condition c'est l'état de compétence de la bactérie réceptrice. cet état dépend de la température, du PH, de la présence de certains composants nutritifs.
- Et de l'intégration de l'ADN au génome de la souche réceptrice
- En 1944 AVERY, MacLEOD, McCARTY démontrent que le principe transformant est l'ADN bactérien

Experience d’AVERY, Mac LEOD, Mac CARTY



2/ la conjugaison

La conjugaison est un transfert d'ADN entre une bactérie donatrice dite male et une bactérie réceptrice ou femelle, et qui nécessite le contact et l'appariement entre ces bactéries reposant sur la présence chez la bactérie donatrice d'un facteur de sexualité ou de fertilité (facteur F) ; celui-ci permet la synthèse de pilis sexuels et donne la polarité au chromosome.

Plasmide conférant des propriétés conjugatives à la bactérie : ex facteur F

Le plasmide F (F pour fertilité) est un plasmide un peu particulier, il est capable de s'intégrer au chromosome bactérien. Lorsque le facteur F est intégré au chromosome bactérien, la bactérie devient Hfr (haute fréquence de recombinaison) Chez *Escherichia coli* par exemple, l'intégration du facteur F peut se réaliser à différents endroits du chromosome.

Plasmides

Eléments extra-chromosomiques, capables de se répliquer (ADN bicaténaire circulaire).

En 1959, le caractère multirésistant de *Shigella dysenteriae* isolées au cours d'une épidémie, au Japon, est associée aux plasmides.

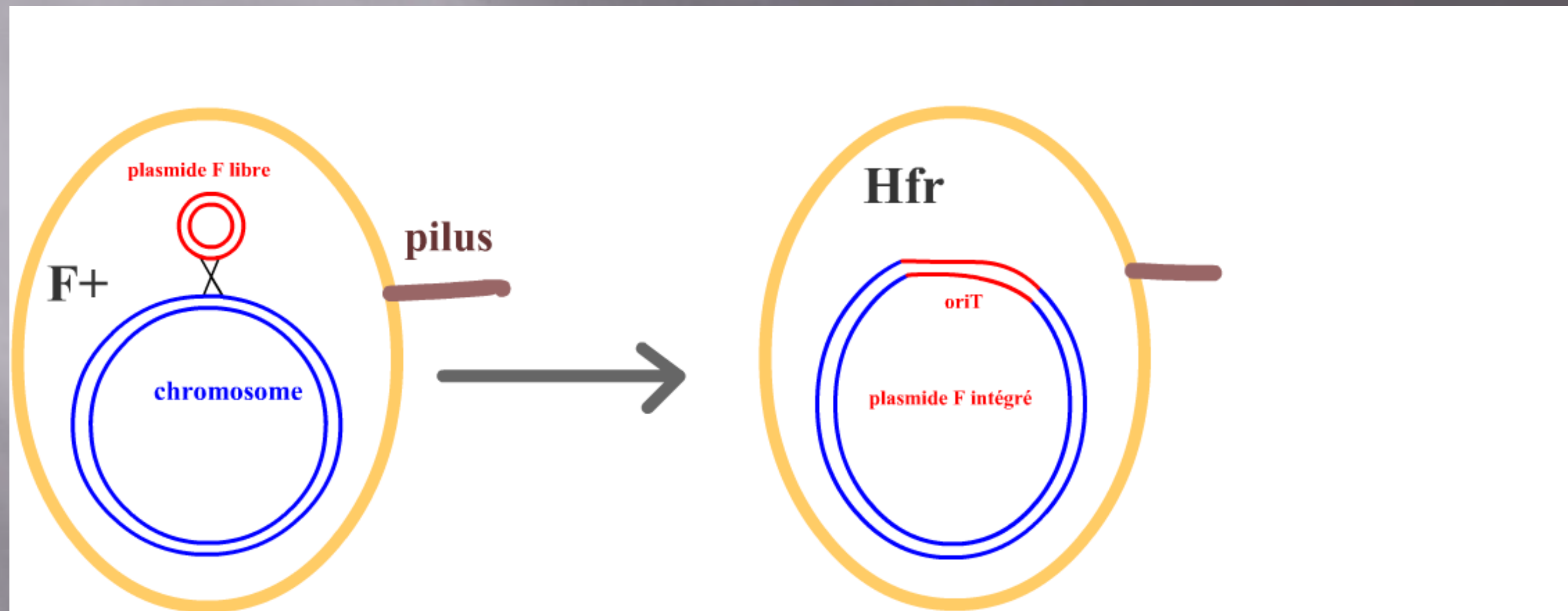
La présence des plasmides ➡ l'acquisition par la bactérie de caractères phénotypiques majeurs :

- Résistance acquise aux antibiotiques (90% des cas de résistance observée).

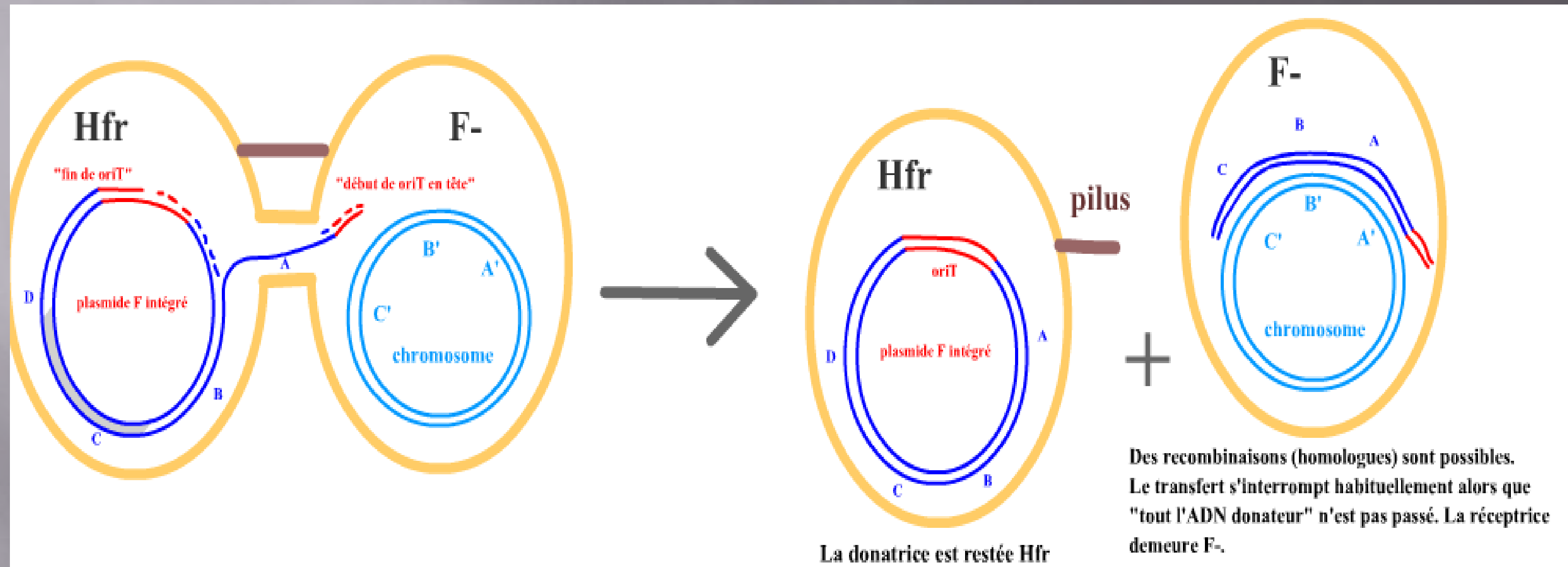
- Résistance aux métaux lourds (composés mercuriels, sels de cadmium, de bismuth, de plomb, d'antimoine, aux arséniates et arsénites).

- Production de substances pathogènes
  exemple : *E.coli* entéropathogènes, entérotoxiques, entéroinvasifs
  exemple : *Vibrio cholerae*: entérotoxines

- Acquisition de caractères métabolique : hémolysine, fibrinolysine des staphylocoques.



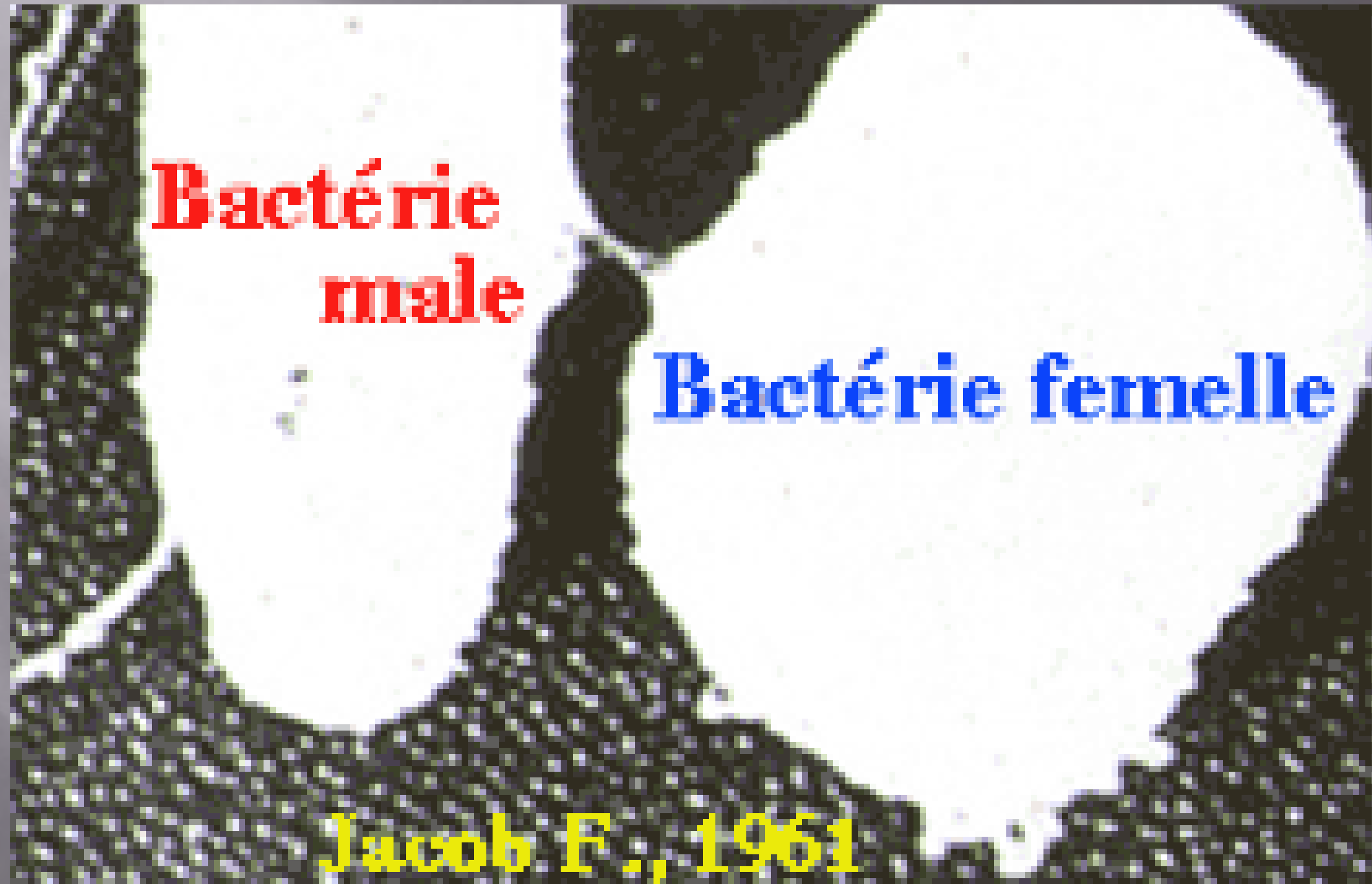
Bactérie mâle



Bactérie femelle

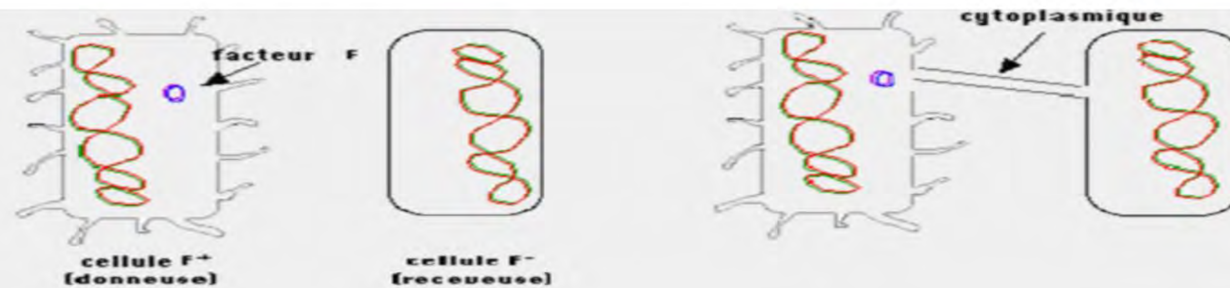
- **Processus sexuel strict**
- **Contact et appariement**
- **Sexes différents, pili sexuels**
- **Pont cytoplasmique**
- **Transfert d'ADN chromosomique à sens unique, en général partiel**

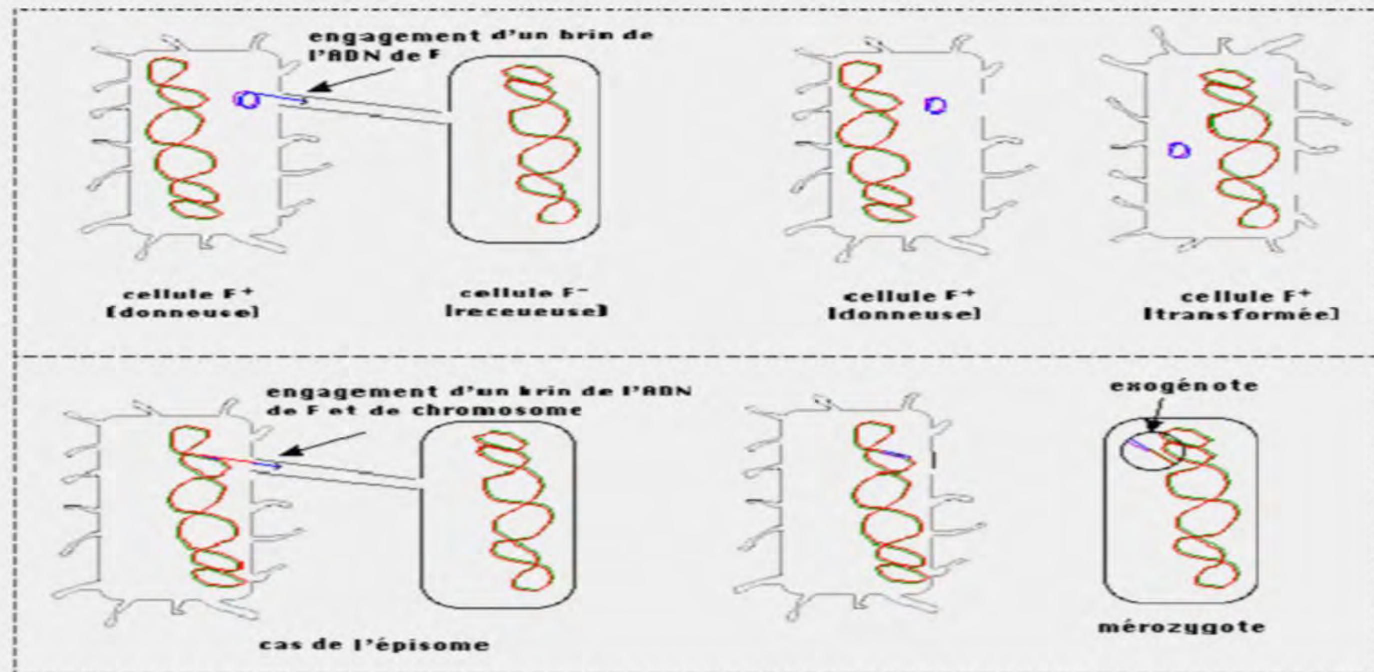
La conjugaison



LA CONJUGAISON

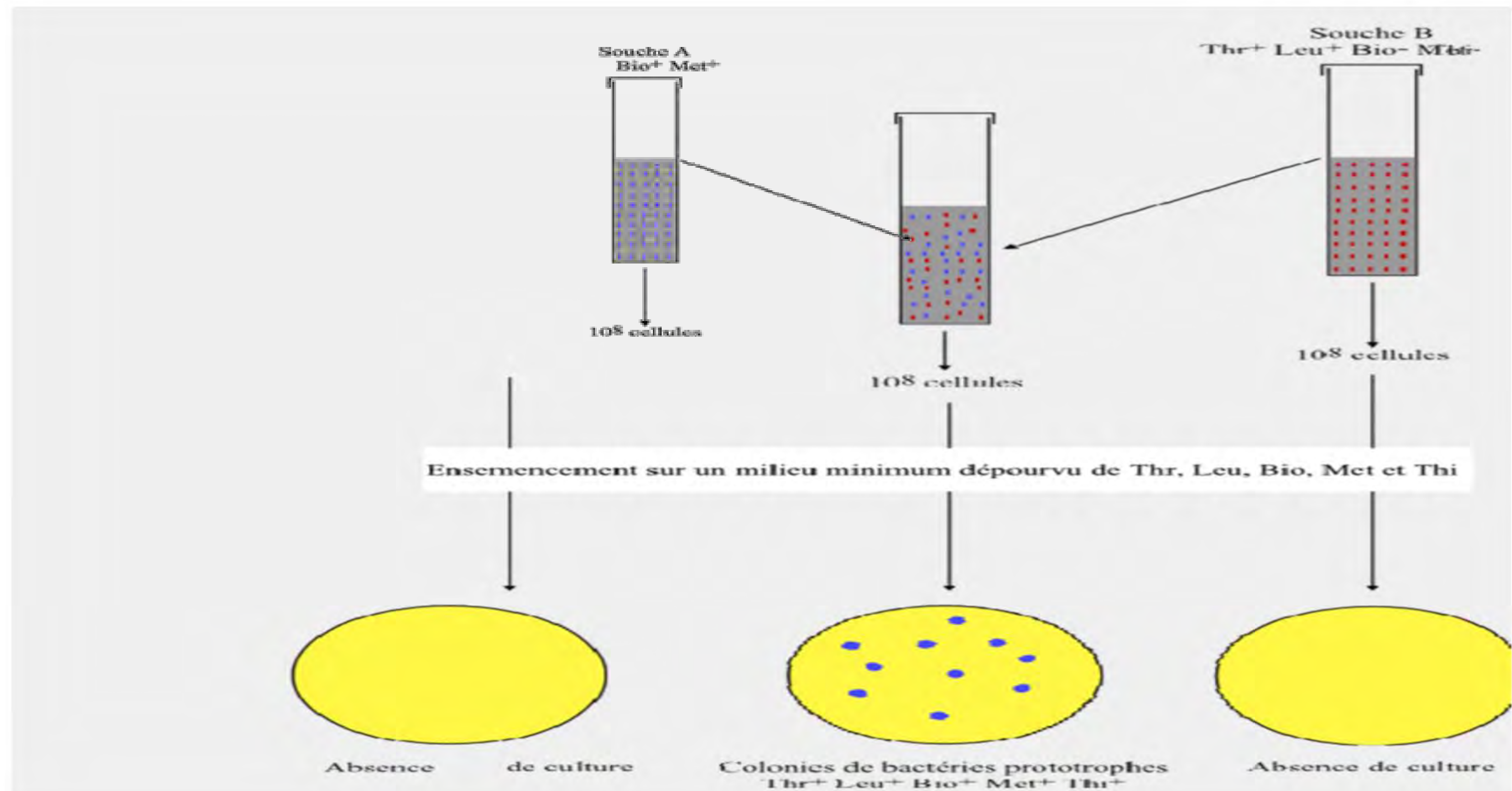
Le transfert peut concerner aussi bien l'ADN chromosomique qu'extra chromosomique ou **plasmide**





 Le transfert peut concerner aussi bien de l'ADN chromosomique qu'extra chromosomique ou plasmide

C'est LEDERBEG et TATUM qui en 1946 ont été à l'origine de la découverte de la conjugaison en mélangeant dans un milieu de culture liquide 2 types de mutants auxotrophes (bactéries incapables de faire la synthèse d'un métabolite essentiel). D'une part des mutants E. coli exigeants seulement en thréonine T- et leucine L- et d'autre part des mutants exigeants seulement en méthionine M- et biotine B-. Apres plusieurs heures de contact entre les mutants T-L-M+B+ et T+L+M-B-, les auteurs obtiennent des souches T+L+M+B+.



- ***La conjugaison chromosomique*** est spécifique d'espèces et concernent surtout les bactéries à GRAM – (entérobactéries) alors que l'extra chromosomique (plasmidique) est plus répandue dans les espèces bactériennes donc moins spécifique d'espèce.

- Le transfert qui est à sens unique (bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice) repose sur la présence chez la bactérie donatrice du facteur sexuel ou facteur de fertilité (F) à laquelle lui confère la polarité ou le caractère male (F+)

- Le facteur sexuel est le premier plasmide bactérien connu, l'information génétique qu'il porte code pour la biosynthèse de pilis sexuels puis son insertion dans le chromosome bactérien et le transfert de ce dernier vers des bactéries réceptrices (F-)

- Le transfert n'est possible que s'il y a appariement par couples de bactéries (donatrice-réceptrice) en faisant intervenir des pilis sexuels qui formeront un pont cytoplasmique par lequel le transfert génétique se fait.

- **Le facteur F** peut être intégré dans le chromosome bactérien dans cette position il permet le transfert de gènes chromosomique mais rarement le facteur F. Il peut également être libre dans le cytoplasme et là il ne transmet que le facteur F à la bactérie réceptrice.

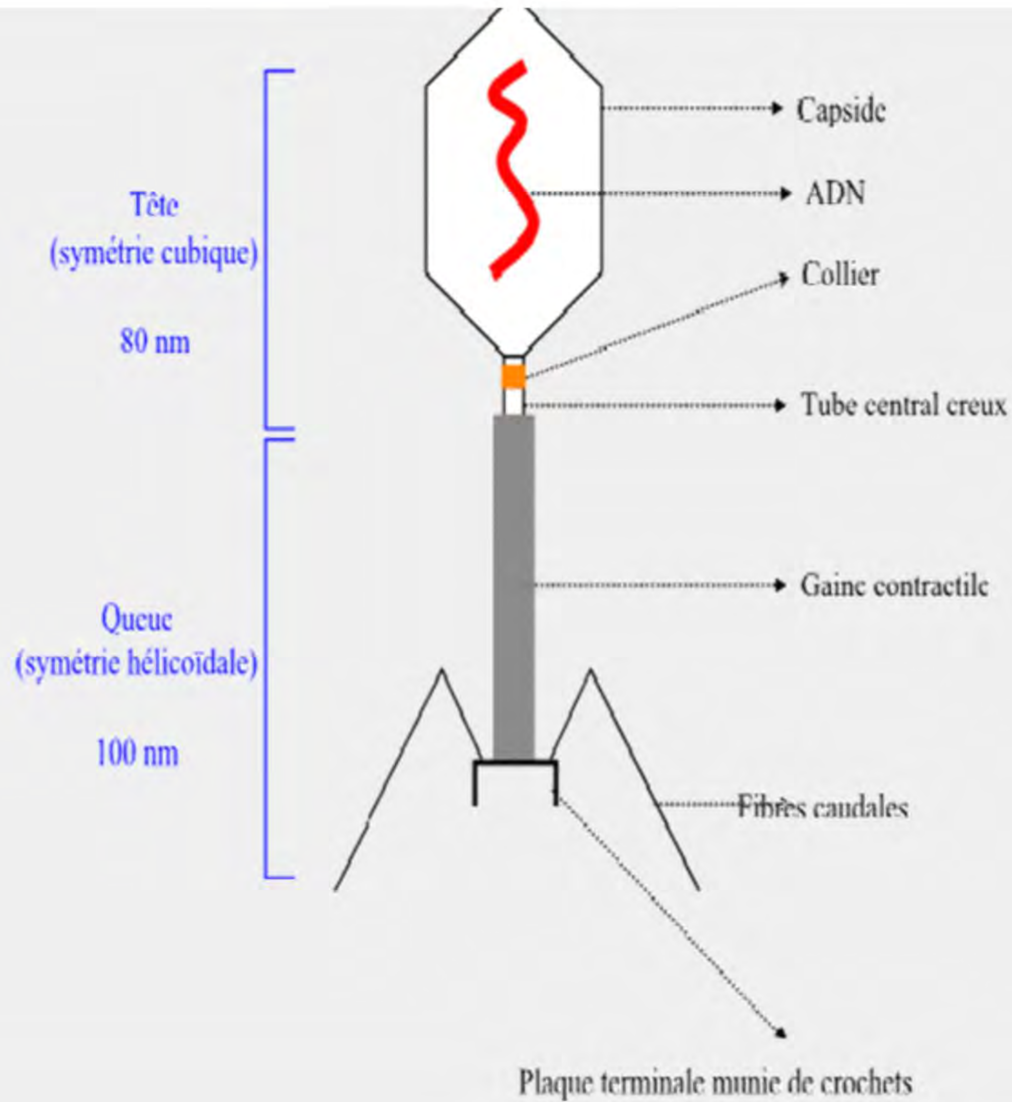
3/ la transduction

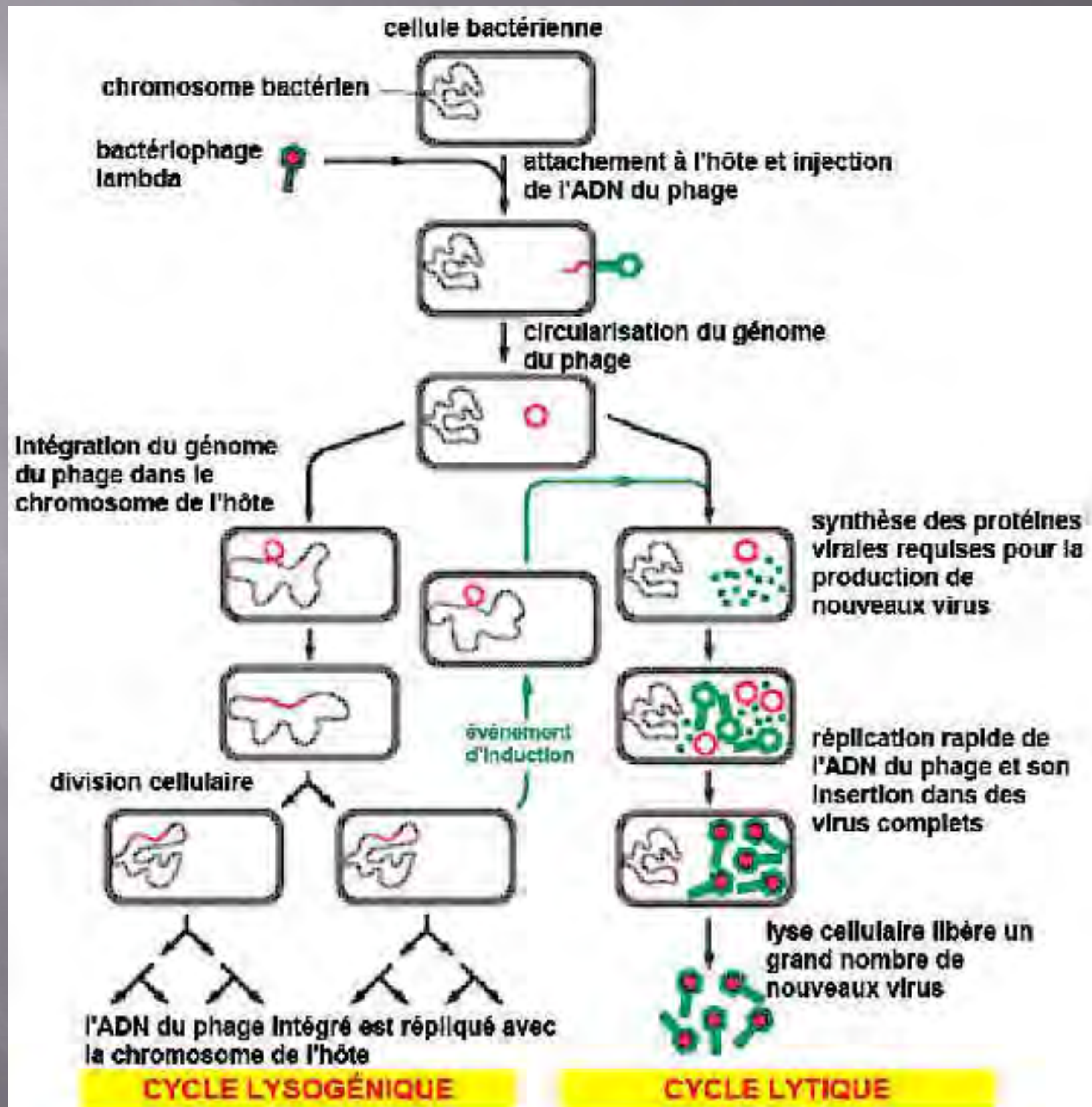
C'est le transfert d'ADN bactérien par l'intermédiaire **de vecteurs :** un bactériophage (phage)

Le bactériophage est défini comme étant un virus de la bactérie, il existe sous 2 formes :

- phage virulent : qui se multiplie et se réplique dans la bactérie puis finit par la lyser : c'est le cycle lytique .
- phage tempéré : s'intègre dans le chromosome de la bactérie il est répliqué en même temps que ce chromosome il est dit prophage et la bactérie qui en est porteuse est dite bactérie lysogène

BACTERIOPHAGE




cellule bactérienne
chromosome bactérien
bactériophage lambda
attachement à l'hôte et injection de l'ADN du phage
circularisation du génome du phage
Intégration du génome du phage dans le chromosome de l'hôte
synthèse des protéines virales requises pour la production de nouveaux virus
événement d'induction
réplication rapide de l'ADN du phage et son insertion dans des virus complets
division cellulaire
lyse cellulaire libère un grand nombre de nouveaux virus
l'ADN du phage intégré est répliqué avec la chromosome de l'hôte
CYCLE LYSOGÉNIQUE
CYCLE LYTIQUE

Impact des bactériophages

- phages virulents : le cycle est constamment lytique
- phages tempérés : le cycle comprend une phase lysogène et une phase lytique

La phase lysogène entraîne des modifications importantes :

. Induit un état d'immunité

. Permet l'expression de gènes

Nouveaux antigènes bactériens (Salmonelles)

Production de toxines : diphtérie, botulisme, toxine erythrogène streptococcique, entérotoxines des Staphylocoques

- *La transduction* est liée à l'existence de bactéries lysogènes

- Lorsque les gènes transférés (pas plus de 1-2% du génome de la bactérie lysogène) s'intégrant à n'importe quel endroit du chromosome de la bactérie réceptrice et que celle-ci les transmet à sa descendance on dit que la ***transduction est complète ou généralisée*** (le phage peut transduire n'importe quel gène de la bactérie donatrice) alors que la transduction spécialisée concerne toujours les mêmes gènes .

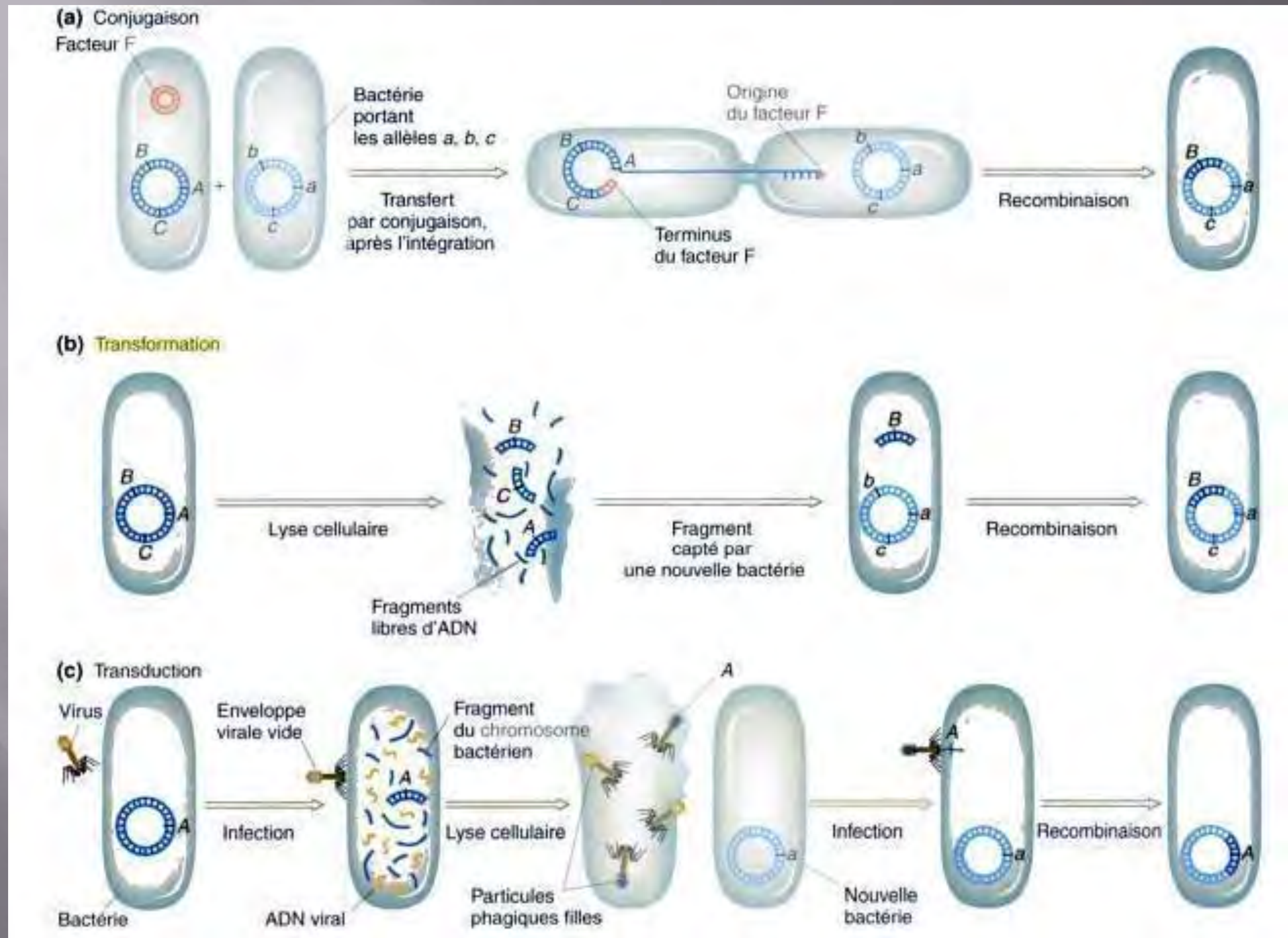
- Quand les gènes transférés ne s'intègrent pas dans le chromosome ce qui est fréquent, on dit que ***la transduction est abortive*** .les gènes passent alors de la cellule mère à une seule cellule fille, il n'y a donc pas de généralisation du caractère transféré à l'ensemble de la descendance.

- ***La conversion lysogénique*** : dans certains cas le génome du bactériophage apporte lui-même un nouveau caractère très important pour la bactérie réceptrice. (ex : sécrétion de la toxine diphtérique ou bien de la toxine erythrogene du streptocoque A) on dit qu'il y a conversion lysogénique.

- La conversion et la transduction sont des phénomènes qui font tous les deux intervenir des bactériophages, mais dans la conversion c'est le génome du bactériophage qui est responsable du nouveau caractère acquis par la bactérie alors que dans la transduction le bactériophage a seulement un rôle de vecteur et le génome transféré provient d'une autre bactérie.

Exemples de conversion lysogénique

- **Production de toxines = virulence**
  - *Corynebacterium diphteriae*
    - Toxine diphtérique : diphtérie
  - Streptococcus pyogenes (groupe A)
    - Toxine érythrogène : scarlatine


(a) Conjugaison
Facteur F
Bactérie portant les allèles a, b, c
Transfert par conjugaison, après l'intégration
Origine du facteur F
Terminus du facteur F
Recombinaison
(b) Transformation
Lyse cellulaire
Fragments libres d'ADN
Fragment capté par une nouvelle bactérie
Recombinaison
(c) Transduction
Virus
Bactérie
Enveloppe virale vide
Infection
ADN viral
Fragment du chromosome bactérien
Lyse cellulaire
Particules phagiques filles
Infection
Nouvelle bactérie
Recombinaison

4/ *éléments génétiques mobiles à l'intérieur d'une bactérie*

- **Transposon** : ou **élément transposable**, est une séquence d'ADN capable de se déplacer et de se multiplier de manière autonome dans un génome et qui permet également au gène de sauter d'une position chromosomique à une position plasmidique.

- **Intégrons** : sont des éléments génétiques retrouvés exclusivement chez les bactéries Ils constituent un système naturel de capture, d'expression et de dissémination des déterminants de résistances aux antibiotiques, le plus souvent portés par des plasmides ou des transposons. C'est donc une structure qui permet à des gènes de s'intégrer et de s'exprimer .

- La présence d'un intégrons dans un transposon est un mécanisme fréquent.

REFERENCES DES PLANCHES

- fr.wikivisual.com/images/a/a4/Nucleotide.gif
- fr.wikivisual.com/.../7f/RéplicationdelADN.png
- http://www.univ-lille1.fr/master-proteomique
- www.bacteriologie.net/fiches/mutationlederber .
- svt.ac-dijon.fr/.../IMG/griffith-100x75.jpg
- ead.univ-angers.fr/.../cours htm/chap6/fig6-1.gif conjugais
- fr.wikipedia.org/wiki/Transduction
- www.cegep-ste-foy.qc.ca/.../notes adn/adn2.htm